

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1933

N^e 6

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1933

PAR

Henry HESPEL

Né le 11 Juin 1910, à Waziers (Nord)

Le Diagnostic précoce de la Gestation

chez la Jument de pur sang

par le dosage de la Folliculine dans l'urine

JURY :

Président : M. BRINDEAU, Professeur à la Faculté de Médecine.

Assesseurs	{	M. LESBOUYRIES,	{	Professeurs à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
		M. MAIGNON,		

SAUMUR

Imprimerie Maurice CHEVALIER

6, rue du Puits-Tribouillet

1933

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1933

N°.....

21

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1933

PAR

Henry HESPEL

Né le 11 Juin 1910, à Waziers (Nord)

Le Diagnostic précoce de la Gestation chez la Jument de pur sang par le dosage de la Folliculine dans l'urine

JURY :

Président : M. BRINDEAU, Professeur à la Faculté de Médecine.

<i>Assesseurs</i> }	M. LESBOUYRIES,	} Professeurs à l'Ecole Nationale
	M. MAIGNON,	

SAUMUR

Imprimerie Maurice CHEVALIER

6, rue du Puits-Tribouillet

1933

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ECOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE

Directeur : M. E. NICOLAS.

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire
des Ecoles vétérinaires ; P.-J. CADIOT, H. VALLÉE.

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques.....	BRESSOU.
Physiologie, thérapeutique générale.....	MAIGNON.
Physique et chimie médicales, toxicologie, pharmacie.....	NICOLAS.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique ; Zoologie.....	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique ; sémiologie et propédeutique, jurisprudence.....	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, cli- nique ; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et fer- rure.....	COQUOT.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique ; médecine opératoire, obstétrique.....	LESBOUYRIÈS
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique	PANISSET.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique ; autopsies.	PETIT.
Zootecnie et économie rurale	DECHAMBRE
Agronomie, botanique et hygiène ; matière médicale.....	{ DECHAMBRE et HENRY..
Industrie et contrôle des produits d'origine animale.....	VERGE.

PROFESSEUR AGRÉGÉ

M. LESBOUYRIES

CHEF DE TRAVAUX AGRÉGÉ

M. SIMONNET.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. BERTHELON. — BRION. — GORET — MONVOISIN. — MOUSSU (R).
VALADE.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opi-
nions émises dans les dissertations qui leur sont présentées, doivent être
considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur
donner ni approbation, ni improbation.



A MES PARENTS



A MONSIEUR LE PROFESSEUR BRINDEAU

de la Faculté de Médecine de Paris.

En très respectueux hommage.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LESBOUYRIES

de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort.

*Pour le remercier de ses excellentes
leçons et de l'appui qu'il m'a toujours
accordé.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MAIGNON

de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort.

*Qu'il daigne trouver ici l'assurance de
mon extrême gratitude pour l'aide et les
conseils qu'il m'a prodigués durant quatre
années passées dans son laboratoire.*

A MONSIEUR HENRI SIMONNET

Docteur vétérinaire
Docteur es sciences naturelles
Agréé des Ecoles Vétérinaires
Chef de travaux au Laboratoire de Physiologie
de l'Ecole d'Alfort
Chef de Laboratoire à la Faculté de Médecine.

Mon maître...

Non seulement il m'a guidé avec une haute compétence, mais il a joint à ses directives le précieux soutien de son attention constante.

En lui dédiant ce travail, je le prie de vouloir bien agréer ce faible témoignage de ma reconnaissance pour la sollicitude inlassable dont il m'a donné la preuve.

A MONSIEUR GEORGES SPITZ

Professeur de Zootechnie à l'Ecole Vétérinaire
de Rio-de-Janeiro
Vétérinaire à Maisons-Lafitte.

*Pour le remercier d'avoir apporté à la
réalisation de mes recherches le concours
de sa grande expérience.*

A MES MAITRES

A MES AMIS

PREMIÈRE PARTIE

Le Diagnostic précoce de la gestation

SON IMPORTANCE — SES DIFFICULTÉS

CHAPITRE PREMIER

Intérêt du diagnostic précoce de la gestation

L'acquisition d'une certitude au sujet du résultat positif ou négatif d'un accouplement est précieuse à de nombreux titres chez nos grandes femelles domestiques, et en particulier chez les juments de pur sang.

1° La connaissance exacte de l'état génital d'une jument peu de temps après l'accouplement, donne la possibilité si la saillie n'a pas été fructueuse, de la renouveler assez tôt pour obtenir, malgré la première défaillance, un poulain dans les conditions de temps et de saison qu'exigent les règles de l'eugénisme et les nécessités de la production commerciale. On tend à faire naître les poulains destinés au turf dans les premiers mois de l'année. Objets de soins attentifs, ils n'ont pas à redouter les derniers froids de l'hiver auxquels ils seraient exposés dans les conditions d'élevage d'un poulain quelconque. Ils profitent des avantages climatériques du printemps et sont déjà vigoureux au moment des fortes chaleurs. Dès

qu'ils commencent à se nourrir seuls, ils trouvent dans les paturages une herbe jeune et abondante qui constitue un appoint excellent à leur alimentation. Ils possèdent une avance utile sur les sujets qui, bien que nés un peu plus tard, sont néanmoins considérés officiellement comme étant du même âge et seront leurs concurrents dans les mêmes épreuves. Ce dernier point revêt aux yeux des éleveurs et des entraîneurs de chevaux la plus haute importance.

2° La possibilité de renouveler les accouplements dans un bref délai est un moyen pour les éleveurs de dépister dans leur effectif les sujets inféconds, mâles ou femelles, et d'éliminer rapidement ceux dont la stérilité est incurable et dont l'entretien accroît inutilement les charges de l'exploitation.

3° La saillie est couteuse : il n'est pas rare qu'elle atteigne pour les étalons ayant acquis une certaine réputation quinze à vingt mille francs. Ce tarif a été dépassé pour des raceurs particulièrement renommés.

Dans beaucoup de contrats, le prix de la saillie dépend du résultat obtenu : en cas d'échec il est réduit de moitié ou même de deux tiers. Pour éviter autant que possible au propriétaire de la jument une situation qui l'oblige à immobiliser un capital parfois important, aussi longtemps que subsiste le doute, il y a intérêt à diminuer ce délai. Tout procédé qui permettra d'affirmer d'une façon précoce que la tentative de fécondation a réussi ou avorté, donnera à l'éleveur le moyen de retrouver, au mieux de ses intérêts, le libre emploi du

capital en suspens. Le propriétaire de l'étalon, lui-même, disposera plus rapidement de l'argent qui lui est dû.

4° Le diagnostic précoce de gestation présente son application la plus remarquable, à propos des ventes de poulinières après saillie. Ces ventes se font, entre autres lieux, sur le marché de Newmarket. Chaque année, au début de l'automne y sont placées des juments de sang, présumées pleines, — selon l'expression consacrée, — saillies pour la plupart en mai, c'est-à-dire depuis quatre à cinq mois. Si aucun moyen ne permet, à cette époque, d'assurer que ces juments sont ou ne sont pas fécondées, le marché se fait à l'aveuglette. L'acheteur, si averti qu'il puisse être, paye parfois très cher une jument dont il attendra en vain le produit espéré : perte sèche et totale, car il ne lui est autorisé aucun recours d'après les termes du contrat. Le vendeur ne peut être considéré comme responsable d'une défaillance qu'il ignorait, sans doute, au moment de la vente, mais que risquait sciemment l'acquéreur et qui ne peut être classée parmi les vices cachés de la chose vendue, entraînant la réhabilitation.

Pour ces raisons essentielles qui appartiennent au grand élevage, pour des motifs plus étroits de convenances individuelles (les plus importants en obstétrique humaine), enfin pour la satisfaction d'une curiosité purement scientifique, l'intérêt d'un diagnostic précoce de la gestation s'impose et n'est plus à discuter.

CHAPITRE II

Semiologie de la gestation

« Si l'on se reporte aux dates d'apparition des principaux symptômes, on voit que ce n'est guère que dans la deuxième moitié de la gestation que la présence du fœtus peut être facilement mise en évidence, alors que bien souvent il y aurait un grand intérêt à être renseigné peu de temps après l'accouplement. »

BOURNAY et ROBIN,
« Obstétrique vétérinaire. »

Passant en revue ces méthodes et nous efforçant d'éclairer surtout leurs faiblesses, non sans reconnaître que certaines d'entre elles mériteraient une étude plus approfondie et une mise au point capable de les rendre utiles, nous chercherons à mettre en lumière la pauvreté des moyens actuels de diagnostic précoce de la gestation.

Nous les rangerons en deux groupes :

- 1) Les méthodes d'examen clinique,
- 2) Les méthodes de laboratoire.

Examen clinique de la mère et du fœtus

A) INSPECTION

Si la fécondation fait en principe cesser l'activité génésique, il est aussi fréquent de constater le retour des chaleurs chez des femelles pleines, comme le démontrent

les observations de SAINT-CYR et de CORNEVIN chez la vache, de MASCHERONI chez la jument, que de voir s'établir d'une façon inopinée le repos dioestral en dehors de toute gestation. Chez la jument surtout dont le rythme des chaleurs est irrégulier et encore mal connu, elles se produisent généralement vers les mois de mai ou juin puis cessent durant une année, même s'il n'y a pas eu fécondation. Parfois seulement les chaleurs réapparaissent en automne mais leur retour après cinq ou six mois ne pourrait être d'aucun secours à un diagnostic que peuvent alors assurer d'autres procédés.

L'adoucissement du caractère, les défaillances de l'énergie, la propension à l'engraissement sont des symptômes sujets à caution si l'on tient compte des difficultés de leur appréciation et des facteurs de variations individuels qu'ils peuvent offrir à l'observateur le plus perspicace.

Le développement du ventre est variable, parfois peu accusé, voire même nul; il permet de confondre la gestation avec l'ascite, les tumeurs, etc..., surtout avec l'hydromètre. Caractéristique cependant par sa situation dans le tiers inférieur du flanc gauche et par son évolution, il autorise à présumer fortement la gestation, quand il est confirmé par des mesures précises et répétées telle qu'on peut le faire avec l'abdominomètre de DETROYE. Mais il ne peut être apprécié sûrement que dans les six derniers mois avant la mise bas.

Il en est de même du développement des mamelles et de l'affaissement de la croupe, apparents au plus tôt vers le sixième mois de la gestation selon CORNEVIN et GOUBAUX. Ces deux signes n'ont d'ailleurs qu'une mince

valeur diagnostique; la poussée mammaire peut se manifester en tout temps et FURHIMANN [1] a montré que « la croupe se casse » chez toute femelle dont l'appareil génital est affecté d'une lésion douloureuse : kystes, tumeurs, tuberculose.

Le déplacement de la vulve qui s'enfonce entre les pointes de l'ischium durant la première partie de la gestation sous la traction qu'opère l'utérus gravide est difficilement perceptible et ne se manifeste que tard. Avant le sixième mois le poids de la masse utérine est trop faible pour produire cet effet. Quant aux modifications franchement visibles de la vulve : proéminence, tuméfaction... ce sont des prodromes de l'accouchement qui n'offrent pour nous aucun intérêt.

B) PALPATION

Les indications que l'on peut tirer des méthodes de palpation soit externe, soit interne par voie rectale ou vaginale sont plus précieuses mais leur recherche ne va pas sans difficulté et reste encore stérile ou équivoque avant un long délai.

L'exploration du flanc est un procédé incommode. La jument souvent irritable, cherche d'autant plus à se défendre de chaque attouchement brusque que son instinct la pousse à éviter toute violence à l'embryon qu'elle porte. Ses réactions, la contraction de sa paroi abdominale s'opposent à une investigation utile. Tout au plus sur une jument calme un praticien expérimenté peut-il espérer reconnaître la présence d'un fœtus au sixième ou septième mois de la gestation.

La recherche des mouvements du fœtus à la main

ou à l'oreille offre les mêmes difficultés et répond plus tardivement encore. Les procédés indiqués pour provoquer les réactions du jeune : exercice au trot, chocs au niveau de l'utérus, refroidissement brusque, aspersion d'eau froide, sont peu compatibles avec l'hygiène particulière que réclament les femelles en gestation.

L'exploration vaginale conseillée par ALBRECHTSEN afin de vérifier l'état du col utérin semble, malgré l'avis de cet auteur, passablement dangereuse. En admettant qu'elle soit d'exécution assez facile chez la vache, elle oblige chez la jument à pratiquer une contention inopportune et nécessite même chez les sujets les plus dociles, des manipulations des organes génitaux susceptibles d'entraîner parfois l'avortement et souvent des troubles inquiétants. Cette méthode permet de constater la présence du bouchon vaginal, signe absolu et précoce de la gestation au dire de certains auteurs, mais discuté par d'autres *. Serait-elle sûre, qu'elle resterait pratiquement inutilisable du fait des risques qu'elle comporte.

L'exploration rectale pronée par plusieurs vétérinaires étrangers, surtout allemands : DENNHARDT, RICHTER, BASS, etc... permet d'apprécier l'état de l'utérus, des artères utérines, du ligament large et peut-être de l'ovaire. D'après RICHTER [2] un frémissement caractéristique accompagne le pouls de l'artère utérine et se perçoit à partir du cinquième mois par le toucher rectal. Cette méthode moins périlleuse que la précédente pour la femelle examinée n'est cependant pas très facile à

* La superfétation dont on connaît quelques cas indéniables, est une preuve suffisante de l'inconstance du bouchon vaginal.

appliquer à la jument de pur sang. Malgré cela elle est jusqu'à présent préconisée comme étant la plus fructueuse. Mais il n'en est pas moins vrai que dans les meilleures conditions, elle ne peut donner de réponses précises avant le cinquième mois.

C) AUSCULTATION

L'auscultation obstétricale n'est pas employée chez la jument. Même renforcée par l'emploi du stéthoscope que BEDEL utilise chez les petites femelles, elle est dépourvue d'intérêt pratique pour ces mêmes raisons qui ont infirmé les méthodes précédentes.

D) EMPLOI DU PENDULE

D'après les expériences de A. MARTIN [3] le pendule pourrait servir au diagnostic de la gestation. Cette méthode curieuse est encore trop peu usitée pour qu'il soit possible d'en établir la valeur.

2. — Méthodes de Laboratoire

A) EPREUVE PHYSIQUE

La radiographie qui a rendu quelques services en obstétrique humaine ne peut jouer aucun rôle avec les moyens dont nous disposons actuellement pour l'examen des grandes femelles domestiques. Tout au plus d'ailleurs fournirait-elle des renseignements dans les dernières périodes de la gestation quand le squelette du germe est en état d'ossification assez avancé. Cette opinion nous a été confirmée par les observations relevées sur des chiennes aux différents stades de la gestation

dans la clinique du Professeur ROBIN à Alfort.

En 1921 NÖRR [4] proposait un procédé d'électrocardiographie du fœtus; méthode délicate et élégante mais nécessitant un appareillage coûteux et dont l'emploi sort du domaine pratique. Elle a l'avantage de donner une réponse dès les premières semaines de la gestation et si des perfectionnements la mettaient à la portée du clinicien, elle serait à placer en tête des procédés de diagnostic.

L'épreuve de FAHRAENS sur la sédimentation du sang in situ, constitue une petite intervention chirurgicale dont les bénéfices ne peuvent compenser les inconvénients évidents.

B) EPREUVES CHIMIQUES

Les analyses chimiques quantitatives tentées afin de mettre en relief les modifications humorales chez les femelles gestantes n'ont pas répondu à l'attente des expérimentateurs. Les résultats obtenus par les analyses qualitatives sont plus appréciables.

Les variations du taux des phosphates dans le sang et dans l'urine se sont montrées irrégulières.

La lactosurie liée à l'activité de la glande mammaire semble ne devoir apparaître que vers la fin de la gestation ainsi que les travaux de PORCHER^e et COMMANDEUR [5] l'ont en effet démontré.

LINKIES [6] prétend diagnostiquer la gestation chez la vache en mélangeant à volumes égaux du lait et de l'alcool absolu. Sa technique réservée aux femelles laitières ne peut être utilisée chez la jument. Les résultats en sont

contestés par FRIEDBERGER et FRÖHNER.

L'abaissement de la calcémie ne se manifeste pas avant le cinquième mois (KIENER). Il est compréhensible que cette variation ne soit pas sensible avant l'époque où commence à s'édifier le squelette osseux du fœtus.

La mesure de l'acétonurie constitue encore un procédé de diagnostic chez la femme. Une femme non gestante et privée d'hydrate de carbone n'élimine pas d'acétone avant 48 heures. Ce délai est beaucoup plus court pendant la gestation selon BULLOCH [7].

PASCALI signale une diminution sensible de la réserve alcaline chez la femme au cours des premiers mois de la gestation. Il ne semble pas que des recherches analogues aient été faites en médecine vétérinaire.

La méthode de MANOÏLOV [9] a été également préconisée. Elle consiste à mettre en évidence par une réaction de coloration la présence d'une substance non définie, dans le sérum de femme enceinte.

Technique : Mélanger dans un tube V gouttes de sérum frais et un centimètre cube de solution aqueuse de diurétine à 2 %. Ajouter 1 goutte de solution alcoolique de bleu de Nil à 0,2 %. Agiter. Le mélange se teinte en jaune ou jaune rosé si le sérum provient d'une femme enceinte; sinon il se colore en bleu ou en mauve.

L'auteur conseille, pour éviter toute confusion, de comparer les colorations obtenues à celles de tubes étalons préparés avec des sérums d'origine connue.

Ce procédé facile donne des réponses très précoces; ses résultats seraient probablement identiques en obstétrique vétérinaire. La voie est ouverte à des recherches qui confirmeraient sa valeur chez nos animaux. Il offre, cependant, un coefficient d'erreur assez élevé, de huit

pour cent environ, attribué à des sérums prélevés sur des sujets fébricitants ou cancéreux.

MARIANI [10] a expérimenté une méthode inspirée des travaux de COSTA en médecine humaine.

Technique : Mélanger dans un tube 1 centimètre cube et demi de solution de novocaïne à 2 % dans le sérum physiologique, avec III gouttes de solution aqueuse de citrate de sodium à 5 %, puis III gouttes de sang. Agiter, centrifuger et placer douze heures à la glacière. Ajouter enfin une goutte de formol. Il se produit un précipité grisâtre dans les quinze minutes si le sang provient d'une femelle gestante. La réaction serait positive chez la vache à partir du premier mois.

C) EPREUVES BIOLOGIQUES

1) VARIATIONS CYTOLOGIQUES ET SÉROLOGIQUES. — Le leuco-diagnostic dû aux observations d'ACHARD, BENARD et GAGNEUX [11] repose sur les variations du pouvoir que possède l'extrait placentaire sur les leucocytes. L'activité de ces éléments est normalement diminuée par la présence d'extrait placentaire: elle est augmentée par cette même action chez la femelle en gestation.

FIEUX, MAURIAC [12] et POTTET ont décelé par des réactions de fixation les anticorps du placenta ou du corps jaune gestatif sans toutefois préciser suffisamment ces méthodes pour leur assurer une valeur absolue.

ABDERHALDEN, puis KOTTMANN, en 1912, ont créé des techniques bien connues, destinées à mettre en évidence dans le sang maternel un ferment spécifique peptonisant l'albumine placentaire. Après une longue période de faveur leurs procédés aujourd'hui très controversés sont à peu près abandonnés. D'après ECALLE [13] la réaction d'ABDERHALDEN est positive dans 100 pour cent des cas

de gestation, mais elle l'est encore dans 33 pour cent des autres cas. Elle ne peut donc servir à certifier la gestation.

Plus récemment, à la suite des travaux de HIRSCH la méthode interferométrique a été appliquée au diagnostic de la gestation.

2) VARIATIONS HORMONALES. — La gestation modifie profondément le régime des sécrétions internes. Non seulement elle accroît ou réduit la production de certaines hormones, dans des conditions de temps et d'importance qui varient selon les espèces, mais elle crée une endocrinie particulière: celle du placenta.

Elle détermine:

a) des variations hormonales tardives: l'hyperactivité des glandes thyroïdes et surrénales avec hypertrophie du tissu noble (RIVOIRE [14]); l'apparition de l'hormone gravidique placentaire ou emménine, très voisine, selon COLLIP, de l'hormone gonadotrope et qui apparaît chez la femme dans la deuxième partie de la grossesse.

b) des variations hormonales précoces, mais inconstantes, selon les espèces, comme la sécrétion de l'hormone gonadotrope de l'hypophyse (prolan A, de ZONDEK). Elle apparaît chez la femme dès les premiers jours de la grossesse et s'élève très rapidement. Elle a été retrouvée chez les primates par FELS, mais elle semble manquer dans toutes les autres espèces. ASCHHEIM, BRUHL, SCHOOP, SIMONNET [15] ne l'ont décelé chez aucune femelle domestique. Cependant COLE et HART [16] et ZONDEK [17] ont obtenu des résultats positifs très nets du quarantième au quatre-vingtième jour de la gestation

chez la jument en recherchant cette hormone hypophysaire.

c) des variations hormonales précoces et constantes : les sécrétions de la lutéïne et de la folliculine.

L'hormone lutéale est produite chez la femme dès le deuxième mois ; son étude quantitative n'est qu'ébauchée. Elle augmente jusqu'au cinquième mois et diminue ensuite, en copiant, par conséquent, la courbe d'évolution du corps jaune. Aucune recherche systématique concernant cette sécrétion n'a été faite chez nos animaux.

La folliculine ou hormone sexuelle femelle est le produit d'une sécrétion permanente qui s'élève d'une façon symptomatique pendant la gestation. Par sa précocité relative, par sa constance et sa spécificité — du moins chez les animaux, — par la commodité de son dosage, l'augmentation du taux de la folliculine dans l'organisme est le signe actuel le plus intéressant de la gestation. La démonstration et l'application de cette théorie feront l'objet de la présente étude.

**Tableau résumant dans l'ordre chronologique les moyens de diagnostic
de la gestation avant le 7^e mois chez la Jument**

I. SIGNES CLINIQUES				II. SIGNES DE LABORATOIRE			
Dates	Inspection	Palpation	Auscultation	Epreuves physiques	Epreuves chimiques	Epreuves serologiques	Variations hormonales
20 ^e jour	néant	néant	néant	néant	néant	Méthode d'Abderhalden de Kottmann	néant
30 ^e jour	néant	Présence du bouchon vaginal à l'exploration vaginale	néant	Electrocardiog. du fœtus (Nörr)	Réaction de Manoïlov		néant
60 ^e jour	néant		néant		Réaction de Mariani		Apparition de l'hormone gonadotrope (Cole et Hart)
90 ^e jour	néant		néant	Méthode de Fahraens			DOSAGE DE LA FOLLICULINE
120 ^e jour	néant	PRÉSENCE DU FRÉMISSEMENT ARTÉRIEL PERCEPTIBLE A L'EXPLORATION RECTALE	néant				
150 ^e jour	Dévelop. du ventre	PRÉSENCE DU FŒTUS A L'EXPLORATION RECTALE	Audition du bruit du cœur du fœtus		Diminution de la calcémie (Kiener)		Apparition de l'Emménine
200 ^e jour	Affaiss. de la croupe	PRÉSENCE DU FŒTUS PERCEPTIBLE PAR LE FLANC					

*Les procédés incertains sont en italique.
Les procédés encore non expérimentés chez la jument sont en caractères ordinaires.
Les procédés certains sont en petites capitales.*

DEUXIÈME PARTIE

La Folliculine

CHAPITRE PREMIER

Propriétés physiques et chimiques de la Folliculine

La folliculine fut définie, en tant qu'hormone du point de vue biologique, avant d'être isolée chimiquement. Cette dénomination fut proposée par COURRIER, en 1924, pour désigner le principe actif de nature indéterminée qui conférait au liquide contenu dans les follicules de l'ovaire ses propriétés physiologiques.

A maturité, le follicule est une formation complexe constituée par une cavité que limitent deux ou trois couches de cellules aplaties: la membrane granuleuse, entourée elle-même par deux tuniques: la thèque interne vasculaire et la thèque externe fibreuse. Au sein du liquide centrale, se trouve l'ovule attaché en un point de la paroi par un conglomerat de cellules: le disque proligère. Sous l'effet croissant de la pression intérieure, les enveloppes se rompent à la surface de l'ovaire et le follicule se vide en même temps du liquide qu'il contenait,

de l'ovule et d'une partie de ses annexes (granulosa et thèque interne).

La corrélation entre ce phénomène et l'apparition des chaleurs fit naître les hypothèses de BUCURA, de REGAUD et DUBREUIL, de SCHICKELE sur le rôle de l'appareil folliculaire. A celles-ci, FRANK [18], en 1917, vint apporter une première confirmation expérimentale, en provoquant par des injections répétées de liquide folliculaire de vache à des lapines impubères, l'hyperplasie de la muqueuse utérine. Les travaux de SEABORN et CHAMPY [19], en 1923, et aussitôt après les résultats décisifs obtenus par COURRIER [20], ALLEN et DOISY, démontrent enfin d'une façon incontestable que l'évolution du follicule de De Graaf commande les phénomènes de rut et les modifications concomittantes de l'utérus.

Préparation de la Folliculine

A partir du liquide folliculaire, et plus tard d'autres substances organiques, plusieurs techniques d'extraction reposant soit sur l'épuisement par les solvants, soit sur des phénomènes d'adsorption, ont permis d'obtenir des extraits renfermant la folliculine à un degré de concentration élevé (LAQUEUR).

DOISY, en 1929, présente, pour la première fois au Congrès international de Physiologie de Boston, des photographies de microcristaux de folliculine obtenus à partir d'urine de gestation. Depuis, des chimistes allemands, américains et français, parmi lesquels BUTENANDT, DINGEMANSE et KOBER, THAYER et DOISY, GIRARD... ont réussi à produire des substances cristallisées ayant les propriétés pharmacodynamiques de l'hormone folli-

culaire. La préparation en est aujourd'hui industrielle et cette folliculine pure, cristallisée, est active à des doses infinitésimales, voisines du microgramme.

Pour mesurer l'activité de ces produits, il est convenu d'appeler « unité-rat », la plus petite quantité de substance nécessaire pour provoquer l'œstrus chez un rat ovariectomisé, pesant environ 140 gr., les injections étant faites à raison de trois, à intervalles de quatre heures. L'« unité-souris » est définie d'une façon analogue et représente environ le quart de l'unité-rat.

Bien que les rapports quantitatifs entre l'unité rat et l'unité souris ne soient pas définitivement établis, nous avons admis à la suite de nos premières expériences, et par comparaison des résultats que nous avons obtenus avec ceux de nos prédécesseurs, que l'unité souris est à peu près le quart de l'unité rat.

Tandis que certains auteurs (KUST, CREW, MILLER, ANDERSON) signalent un taux de mille unités-souris de folliculine par litre d'urine chez la jument pleine depuis soixante à soixante-quinze jours, nous avons trouvé, dans les mêmes conditions, un taux moyen compris entre deux cent cinquante et trois cents unités-rat.

Aucune des urines que nous avons étudiées, n'a présenté avant le soixantième jour une teneur en folliculine supérieure à trois cents unités-rats, alors que l'urine de jument vide peut renfermer, au moment des chaleurs, plus de huit cents unités-souris par litre, et en contient encore trois cents après l'accouchement.

Il nous paraît difficile devant ces observations de retenir l'opinion de BICKER, MELLISH et D'AMOUR [21] qui prétendent identifier l'unité-rat et l'unité-souris, et leur assigner la même valeur quantitative.

Propriétés physiques de la Folliculine

1) SOLUBILITÉ.

La folliculine est soluble dans les lipides, dans l'éther,

le chloroforme, le benzène, les alcools éthyliques, méthyliques, etc..., l'acétate d'éthyle. Sa solubilité dans l'acétone est très grande.

2) DIALYSE ET ADSORPTION.

La folliculine dialyse sur le collodion, la cellophane... Elle est adsorbée par le kaolin, la cellite, l'alumine colloïdale, l'hydrate de fer colloïdal.

3) THERMOSTABILITÉ.

La folliculine est douée d'une grande résistance à la chaleur. RALLS, JORDON et DOISY avaient vu baisser son activité de 60 pour 100 après un séjour de deux heures et demi à 179° sous un vide de 0 mm. 10, mais il s'agissait, sans doute, d'actions secondaires dues à des impuretés. LAQUEUR signale la stabilité de préparations huileuses à 360° et de préparations aqueuses à 170°. SIMONNET a fait subir l'ébullition pendant une demi-heure à des solutions diverses, sans en atténuer l'activité.

Propriétés chimiques de la Folliculine

La nature propre de la folliculine est encore l'objet d'études actuelles. Elle a été obtenue à l'état cristallisé, mais son identification chimique n'est pas encore entièrement assurée. Dans l'état actuel de nos connaissances, elle est tenue pour un composé ternaire, dépourvu d'azote et de phosphore. Ce n'est ni un protide, ni un hydrate de carbone. Ce serait, d'après FUNK, un phénol ou un alcool. VELER, THAYER et DOISY [22] et [23], considèrent la folliculine comme la substance mère de deux produits cristallisés qu'ils ont isolés de l'urine de gestation et qui

possèdent les propriétés physiologiques de l'hormone folliculaire: la theeline et le theelol, deux alcools répondant aux caractéristiques suivantes (CURTIS et DOISY [24]):

	Theeline	Theelol
Formule	$C^{18}H^{22}O^2$	$C^{18}H^{24}O^3$
P. moléculaire.....	270	295
P. de fusion.....	248°	273°8
Pouvoir rotatoire....	+ 156°	+ 61°
Indice d'iode.....	95,2	86,7

La folliculine est sensible à l'action des agents oxydants. Elle résiste à la saponification par les alcalis, sauf en présence d'hydrogène (DICKENS, DOODS et WRIGHT) et par les lipases végétales et animales.

CHAPITRE II

Propriétés physiologiques de la Folliculine (*)

La folliculine agit sur le tractus génital femelle en lui imprimant les modifications caractéristiques des chaleurs; sur le tractus génital mâle dont elle peut inhiber partiellement les fonctions et sur la glande mammaire, dont elle détermine l'activation dans les deux sexes. Elle exerce encore une action, mais beaucoup plus faible, sur d'autres fonctions de l'organisme et possède une influence notable sur les caractères sexuels secondaires. Sa toxicité est pratiquement nulle.

1) ACTION SUR L'APPAREIL GÉNITAL FEMELLE

a) *Le cycle œstral.* — Pour décrire de façon pleinement intelligible l'action de la folliculine, nous rappellerons la physiologie de la sphère génitale femelle, en prenant pour type le cycle œstral du rat, qui sera plus tard notre terrain d'expérience et qui fut l'objet d'une étude approfondie de LONG et EVANS.

Le rat présente, durant sa vie génitale, des périodes de chaleurs revenant régulièrement tous les quatre ou

* Pour développer cette question, nous nous sommes particulièrement inspirés des travaux de SIMONNET [25], de COURRIER [26] et de ZONDEK [27].

cinq jours, selon les individus. Sa ponte ovulaire a lieu même en l'absence du coït, et suit immédiatement le rut, c'est-à-dire le moment d'excitation génésique. En résumé, le rat est un animal polyoestrien à type continu à ovulation spontanée, dont le cycle œstral est d'environ cinq jours.

Ce cycle se divise en quatre phases: le præstrus ou période préparatoire de l'hyperactivité génitale, l'œstrus — du grec *οιστρος* = fureur — ou période de rut et d'ovulation, le postœstrus ou période de constitution du corps jaune et le diœstrus ou période de repos sexuel.

Chacune de ces phases se caractérise par un certain nombre de phénomènes morphologiques et fonctionnels sur les différentes parties du tractus génital:

1° *Le proestrus* — durée de 12 heures environ — se manifeste au niveau de l'ovaire par la croissance des follicules et la regression des corps jaunes. L'utérus se remplit d'un liquide séreux. La muqueuse vaginale se dessèche, les leucocytes disparaissent de sa surface et laissent paraître un revêtement caduc de cellules épithéliales. En plan profond se développe une couche de cellules kératinisées: le stratum corneum. La vulve se tuméfie légèrement.

2° *L'œstrus* — durée de 30 heures environ — débute par la période de rut qui coïncide avec la maturation des follicules. L'utérus distendu par sa sécrétion séreuse l'expulse brusquement à la faveur d'un relâchement du cervix. L'épithélium de la muqueuse vaginale tombe et découvre la couche des cellules cornées. Les lèvres de la vulve sont fortement tuméfiées. Puis le rut disparaît en même temps qu'il se produisent la rupture des follicules et la chute des ovules immatures dans l'oviducte. L'épithélium utérin subit une dégénérescence vacuolaire. Les cellules cornées de la paroi du vagin sont libérées en masses compactes dans la lumière de l'organe par une desquamation abondante,

3° *Le postoestrus* — durée de 6 heures environ — correspond à l'édification des corps jaunes dans la cicatrice des follicules rompus. Les ovules parcourent le salpynx en achevant leur karyokinèses. Sur l'épithélium de l'utérus s'annonce une phase de régénération. Dans le vagin, la muqueuse abondamment infiltrée de leucocytes, perd ses dernières cellules kératinisées et se recouvre d'un mucus riche en polynucléaires.

4° *Le dioestrus* — durée de 60 heures environ — est le retour momentané à l'état d'hypoactivité des différents organes; l'ovaire travaille lentement au développement de nouveaux follicules, en présence de corps jaunes bien formés. Le vagin offre une muqueuse humide et lisse où pullulent les leucocytes et où ne subsiste aucun vestige du stratum corneum. La vulve est revenue à son état normal.

Cycle œstral du Rat

Phases	Ovaire	Utérus	Muqueuse vaginale	Vulve
Proestrus (12 heures)	Croissances des follicules Regression des corps jaunes	Début de la sécrétion séreuse	Epithélium sec dépourvu de leucocytes Au-dessous : stratum corneum	légère tuméfaction
Oestrus (30 heures) 1 ^{re} partie	Maturation des follicules	Expul. brusque de la sécrétion à son maximum	Desquamation épithéliale Stratum corneum en surface	Tuméfaction
2 ^{me} partie	Ovulation	Dégénérence vacuolaire de l'épithélium	Desquamation du stratum corneum	Idem
Postoestrus (6 heures)	Edification des corps jaunes	Début de la régénération épithéliale	Chutes des dernières cellules cornées Réapparition des leucocytes	Retour à l'état normal
Dioestrus (60 heures)	Etat stationnaire Corps jaunes murs Petits follicules	Epithélium régénéré	Muqueuse humide couverte de leucocytes	Etat normal

b) *Les effets de la folliculine.*

1° Chez les femelles impubères — soit chez les rats avant l'âge de deux mois — l'injection d'une quantité convenable de folliculine provoque dans les trois jours l'apparition des chaleurs avec tout le cortège de signes apparents et profonds du cycle œstral sur les voies génitales. L'utérus s'hypertrophie et secrète. Le vagin, normalement clos jusqu'à la puberté, s'ouvre prématurément et sa muqueuse présente une zone de kératinisation. Si l'administration de folliculine n'est pas répétée, ce cycle œstral est suivi d'un repos prolongé jusqu'à l'époque normale de la puberté.

2° Chez les femelles adultes, la folliculine détermine les mêmes phénomènes. Son administration prolongée, à fortes doses, ne peut entretenir le rut indéfiniment ; elle ne fait qu'augmenter sa durée, sans empêcher le retour périodique du diœstrus. En outre, ces doses élevées déterminent au niveau de l'ovaire des phénomènes d'atrésie folliculaire plus ou moins marqués, phénomènes que l'on peut attribuer ou bien à une réaction secondaire hypophysaire ou bien à une sorte de mise au repos analogue à celle que l'on voit au niveau de la thyroïde, sous l'influence des extraits thyroïdiens.

3° Chez les femelles fécondées récemment, la folliculine peut causer la mort du fœtus et l'avortement, ainsi que l'a constaté SIMONNET chez le rat et que semblent le confirmer certains cas d'avortements enregistrés par VIGNES, chez des femmes soumises à un traitement opothérapique inopportun. Elle agirait soit sur la nidation

de l'œuf, soit sur la sensibilité du muscle utérin, soit plutôt sur la cohésion ovo-métriale par la formation d'hémorragies inter-utero-placentaires. A la fin de la gestation, la folliculine a peu d'effet; cependant il est à noter qu'elle traverse le placenta et peut reporter son action sur les organes génitaux du fœtus (COURRIER).

4° Chez les femelles en lactation la folliculine fait réapparaître le cycle oestral sans interrompre la sécrétion lactée.

5° Chez les femelles castrées une injection isolée de folliculine détermine toutes les manifestations du cycle oestral. Les injections répétées en nombre suffisant provoquent un rut continu, à l'opposé de ce qui se passe dans le même cas chez les femelles normales. Elles font disparaître l'atrophie de l'utérus consécutive à l'ovariectomie et rétablissent par conséquent les apparences de la vie génitale. On peut en conclure que la folliculine tient sous sa dépendance la physiologie extra-ovarienne du cycle oestral.

6° Chez les femelles ayant dépassé la ménopause, c'est-à-dire l'âge de vingt mois en moyenne, chez le rat, la folliculine produit un rajeunissement à la fois sexuel et général. Les appétits génésiques renaissent, les grandes fonctions s'améliorent.

II) ACTION SUR L'APPAREIL GÉNITAL MALE

Pour quelques auteurs FELS, TRUFFI, LAQUEUR... la folliculine entraverait chez le mâle impubère le développement des organes génitaux et la migration scrotale du

testicule. Chez l'adulte elle suspendrait la spermatogénèse.

COURRIER explique ces phénomènes par la grande sensibilité des spermatocytes à toute influence, et refuse à la folliculine une action inhibitrice spécifique. Il appuie son opinion sur les expériences d'hermaphrodisme artificiel qui démontrent que l'appareil génital mâle fonctionne parfaitement chez des individus dont les tissus sont imprégnés de folliculine.

Les phanères par contre sont sensibles aux effets de l'hormone folliculaire. Sous son action, FREUD [28] a vu apparaître chez des coqs et des faisans, un plumage de type féminin sur des portions de tégument préalablement déplumées.

III) ACTION SUR LA GLANDE MAMMAIRE

Nous avons vu que la folliculine n'arrêtait pas la sécrétion lactée chez les nourrices. Bien plus, elle détermine l'hypertrophie de la mamelle chez les femelles impubères et séniles et même chez les mâles d'après les expériences de VINTEMBERGER chez le lapin en 1925, et de CHAMPY chez le cobaye en 1928.

Elle semble perdre ce pouvoir chez les femelles adultes ou castrées où son action serait en dépendance étroite des sécrétions de l'hypophyse et du corps jaune.

En soumettant des souris mâles réfractaires au cancer de la mamelle, à l'action prolongée de la folliculine, LACASSAGNE [29] a réussi à obtenir chez eux la même fréquence de cancer spontané que chez la femelle.

IV) ACTION GÉNÉRALE DE LA FOLLICULINE

La folliculine paraît à peu près inactive — à l'état pur — sur les grandes fonctions de l'être adulte. Mais chez les jeunes, elle limite la croissance des mâles et exagère la réduction de taille et de poids des femelles, qui est la conséquence normale du dimorphisme sexuel.

Chez les femelles séniles nous avons déjà signalé qu'elle provoque en sus du rajeunissement génésique une recrudescence du trophisme général.

CHAPITRE III

Origine et répartition de la Folliculine

I. ORIGINE DE LA FOLLICULINE

S'il est évident qu'en dehors de la gestation la folliculine se forme dans l'ovaire puisqu'elle disparaît à la suite de la castration, à quel élément de cet organe faut-il attribuer la sécrétion ?

Ce ne peut être au tissu interstitiel inexistant parfois — par exemple chez la femme — et qui offre toujours une structure histologique apparemment étrangère à toute fonction sécrétrice.

Le corps jaune menstruel ne peut intervenir davantage dans l'élaboration de la folliculine puisqu'il régresse et disparaît au moment précis où la production s'en élève.

Par élimination la fonction de glande endocrine revient au follicule. Pour SCHROEDER la folliculine est issue de la membrane granuleuse. Pour quelques auteurs elle proviendrait de la fonte vacuolaire des cellules folliculeuses. Pour d'autres, ASCHHEIM, ZONDEK, SCHUSCHIANA, elle est formée dans les cellules thécales. Cette théorie repose sur les expériences concluantes de ZONDEK et ASCHHEIM qui ont étudié les propriétés de chaque tissu de l'ovaire par des implantations pratiquées chez la souris.

FELS, il est vrai, n'a pas trouvé de folliculine dans l'ovaire des nouveaux nés où les poussées pflugériennes créent cependant une abondante formation thécale. Mais nous pouvons réfuter cette objection en admettant que les cellules thécales n'acquièrent leur pouvoir sécréteur qu'au moment de la puberté, phénomène qui est de règle pour l'ensemble de l'appareil génital.

Chez les femelles pubères et non gravides la folliculine sécrétée par la thèque s'accumule dans le liquide folliculaire. On peut supposer qu'au moment de la maturation du follicule, sa production s'accroît, qu'elle déborde en quelque sorte dans le sang et exerce son action sur le tractus génital. Après la rupture ou la régression du follicule elle est éliminée par le rein, en même temps que s'effacent les symptômes organiques et psychiques du rut.

L'origine de la folliculine devient beaucoup plus obscure au cours de la gestation. C'est à cette période pourtant que l'hormone apparaît à son maximum dans les humeurs de la femelle, à l'heure même où l'activité de l'ovaire est suspendue et le follicule atrésié.

Le corps jaune né des vestige du follicule et de son écorce thécale hérite-t-il de leurs propriétés ? Il élabore une hormone propre dont le rôle est de provoquer les modifications de la muqueuse utérine qui permettent la nidation de l'œuf et de suspendre l'activité génésique pour assurer l'évolution normale de la gestation. Ce serait un paradoxe — un contre sens physiologique, a dit COURRIER — que de prétendre attribuer au corps jaune la sécrétion de la lutéine et de la folliculine, alors que ces deux hormones s'opposent l'une à l'autre du moins

en apparence, car leur antagonisme paraît surtout dépendre de la sensibilité des organes récepteurs.

En outre le corps jaune gestatif renferme très peu ou ne renferme pas de folliculine (FRANK, ALLEN et BYRON, BROUHA et SIMONNET [30]).

Nous avons épuisé par l'alcool la pulpe de corps jaunes, prélevés sur des vaches abattues pour la boucherie, et portant des fœtus âgés de trois à six mois. Les extraits obtenus placés en suspension huileuse, la plus favorable à l'action de la folliculine, et injectés à des doses représentant dix à quinze grammes d'organe frais se sont montrés totalement inactifs sur des rats ovariectomisés.

Il devient manifeste que le corps jaune est étranger à l'élaboration de la folliculine, ou n'y joue qu'un rôle peu important, devant les observations cliniques relevées en obstétrique humaine.

Chez des femmes ovariectomisées durant leur grossesse ni le sang ni l'urine n'ont accusé une diminution de leur teneur en folliculine.

Cette persistance de l'hormone en l'absence de l'ovaire chez des femelles gravides, incite à attribuer sa sécrétion à des organes riches en folliculine : l'hypophyse ou le placenta.

Il semble que cette fonction soit dévolue pendant la gestation à la glande myométriale. LÆWE et VOSS en transplantant chez une souris castrée un fragment de placenta humain ont déterminé après trois semaines de latence l'apparition d'un cycle œstral. Une observation courante plaide encore en faveur de cette hypothèse : si l'ovariectomie prive les femelles qui n'ont jamais été fécondées de toute manifestation genésique, il est reconnu

cliniquement que cette opération n'est pas suivie du même succès quand on la pratique sur des femelles ayant porté une ou plusieurs fois. Dans ce cas, il est fréquent de voir réapparaître des ébauches plus ou moins parfaites de cycle œstral pendant une période parfois très longue après la castration. Ces faits s'expliqueraient par la résolution incomplète des tissus différenciés au niveau de l'utérus après une gestation. Les vestiges de la glande myométriale continueraient à sécréter de la folliculine après ablation de l'ovaire.

II. RÉPARTITION DE LA FOLLICULINE

Dans le liquide folliculaire, le taux de la folliculine peut atteindre selon les mesures de SIMONNET, d'ALLEN et DOISY, etc... deux mille unités rats par litre chez la jument, chiffre maximum auquel correspond une moyenne d'environ mille cinq cents unités-rats. Chez la femme PRATT, ALLEN et DOISY comptent plus de sept mille unités-rats par litre de liquide folliculaire.

La folliculine est très répandue, dans l'organisme, elle existe dans le lait (BROUHA et SIMONNET [31], dans la bile, dans la salive, dans les matières fécales, dans le parenchyme de l'ovaire, de l'hypophyse, du placenta. Chez la femme trois cents à quatre cents unités-souris sont contenues dans un kilog de placenta à terme, selon COLLIP. Le foie du fœtus est le seul tissu embryonnaire qui contienne de la folliculine.

On la trouve surtout dans le sang et dans l'urine. Au cours du cycle œstral, chez la jument, sa teneur dans l'urine dépasse huit cents unités-souris par litre d'après

CREW, MILLER et ANDERSON [32]. Pendant la gestation, cette proportion s'élève si fortement qu'elle atteint près de deux cent mille unités-souris au moment qui précède l'accouchement.

Si l'on s'en tient aux chiffres de MARRIAN et BUTENANDT qui admettent une perte d'activité de 80 pour cent de l'hormone au cours de son élimination rénale, par suite de phénomènes d'hydratation, on peut conclure que la quantité de folliculine secrétée journellement chez une jument oscille entre mille cinq cents et un million deux cent mille unités-rats, selon qu'elle est en dioestrus ou à la fin de la gestation.

Des principes doués des mêmes propriétés œstrogènes que la folliculine — les folliculinoïdes — qu'il serait prématuré d'identifier absolument à cette hormone, ont été décelés dans les tissus mâles (LÆWE [33], LAQUEUR [34], BROUHA et SIMONNET, dans les œufs de poule, etc... Ils se retrouvent dans les végétaux : blé, riz, pomme de terre, levure. Les chatons femelles de saules en contiennent deux cents unités-souris par kilogramme de substance fraîche. Il est donc permis, avec quelques auteurs, de supposer que la présence dans les organismes mâles d'une pseudo-folliculine peut être attribuée à une origine alimentaire que confirmerait la concentration de cette substance dans la bile.

Enfin il existe dans les tissus des cancéreux d'assez grandes quantités de folliculine ou de folliculinoïde.

TROISIÈME PARTIE

Le dosage de la Folliculine

TEST BIOLOGIQUE DE LA GESTATION

— x —

CHAPITRE PREMIER

La Folliculine dans l'urine de gestation

Nous venons de voir que l'hormone folliculaire et ses homologues sont répandus dans les organes et les tissus les plus variés. Mais il est à remarquer que la teneur en reste assez faible, en dehors de quelques localisations bien définies : le liquide folliculaire, et les humeurs — l'urine en particulier — des femelles en gestation.

Chez une femelle vide l'abondance de l'hormone dans le liquide folliculaire n'entraîne pas une augmentation considérable de son taux dans le sang et les excréta.

Chez les femelles gestantes, au contraire, la production de folliculine — quelle que soit son origine — s'élève si haut, que sa proportion dans les différents liquides organiques croît de façon caractéristique.

Le sang chez la jument renferme toujours beaucoup moins de folliculine que l'urine. Il se produit sans doute

une forte concentration au niveau du rein, et l'élimination serait peut-être activée pendant la gestation par l'abaissement du seuil rénal.

Des dosages comparatifs pratiqués chez des juments pleines depuis 70-80 jours, nous ont permis de vérifier la pauvreté relative du sang en folliculine.

Le sang prélevé à raison de 100-200 cm³ par ponction de la jugulaire, est immédiatement mélangé à trois volumes d'alcool éthylique à 90°. Après deux heures de repos, le liquide est séparé et le précipité épuisé par un volume d'alcool à 70°. Les deux alcools d'extraction sont réunis et distillés sous pression réduite jusqu'à 20-25 cm³. Le produit obtenu peut être directement utilisé. Mieux vaut le reprendre par l'éther. L'extrait éthéré est desséché par contact avec du sulfate de soude anhydre, puis décanté et l'éther en est chassé par évaporation. Le résidu dissous dans un peu d'éther, est incorporé à de l'huile d'olive en quantité telle qu'un cm³ de solution huileuse corresponde à 10 cm³ de sang.

L'urine est employée telle que, après stérilisation banale (séjour de 15 minutes au bain-marie à 100°).

En comparant l'activité de l'urine à celle de l'extrait de sang, nous avons pu conclure que le sang renferme à peine 20 unités-rat de folliculine par litre quand le taux correspondant dépasse 250 unités-rat dans l'urine.

Voici quelques résultats obtenus :

AGE de la GESTATION	URINE		EXTRAIT ÉTHÉRÉ DE SANG		
	Dose	Réponse	Dose	Equivalence en sang frais	Réponse
<i>Essai du 17 Juillet 1931 — Jument « Poésie »</i>					
72 jours	3 cc	+	5 cc	50 cc	—
	5 cc	+	6 cc	60 cc	+
<i>Essai du 24 Juillet 1931 — Jument « Nancucha »</i>					
66 jours	2 cc	—	3 cc	30 cc	—
	4 cc	+	6 cc	60 cc	±
<i>Essai du 30 Juillet 1931 — Jument « Perpétua »</i>					
73 jours	1 cc	—	1 cc	10 cc	—
	2 cc	—	2 cc	20 cc	—
	3 cc	+	3 cc	30 cc	—
	5 cc	+	5 cc	50 cc	±

Le prélèvement de sang ne se fait jamais sans quelque risque chez nos animaux. Il impressionne toujours péniblement leur propriétaire. Il est suivi de manipulations compliquées.

Mieux vaut, à notre avis, s'adresser à l'urine pour le dosage de l'hormone folliculaire.

Cependant KUST et ZUMBAUM [35] préfèrent rechercher l'hormone dans le sang, en employant la souris pour ce test. Ils obtiennent des réponses nettes à partir du troisième mois.

Le dosage dans l'urine de gestation donne très rapidement des réponses qui ne prêtent à aucune équivoque.

Le taux de la folliculine est d'environ 15 à 30 unités-rats par litre d'urine pendant les périodes de repos dioestral. Exceptionnellement il peut atteindre au moment des chaleurs, selon les mesures de CREW, MILLER et ANDERSON [32], 833 unités-souris par litre, soit à peu près 210 unités-rat.

Pendant la gestation cette proportion est rapidement dépassée, et de beaucoup : elle diminue d'autant aussitôt après la mise-bas. Selon les auteurs précités, on trouve :

au 60 ^e jour	1.000	unités-souris	par litre,
au 95 ^e jour	2.500	—	—
au 104 ^e jour	41.000	—	—
au 287 ^e jour	160.000	—	—

et 60 heures après la mise bas, 300 unités-souris par litre, ce qui, traduit en unités-rat, représente 250 unités-rat au soixantième jour, plus de 40.000 à la fin de la gestation, et moins de 100 au surlendemain de l'accouchement.

« Toute urine contenant au moins 250 unités-rat par litre, provient d'une jument pleine ».

CHAPITRE II

Dosage de la Folliculine dans l'urine

I. — Choix d'une méthode

Les méthodes susceptibles d'être utilisées pour déceler la présence de l'hormone folliculaire sont toutes biologiques, la chimie s'étant montrée, jusqu'à présent, incapable de fournir aucun renseignement, ne fut-ce que par une réaction colorée.

Elles ont pour base les différents modes d'action de la folliculine sur le tractus génital femelle. C'est ainsi que l'on peut s'appuyer :

1°) Sur l'action hypertonique que la folliculine exerce, « in vitro » sur le muscle utérin (BROUHA et SIMONNET) [36], d'après la technique décrite par SIMONNET [37] à propos du titrage biologique des extraits hypophysaires.

2°) Sur cette même action excitatrice « in vivo » chez des femelles castrées, contrôlée après sacrifice par la mesure du rythme de contraction du muscle métrial (FRANK).

3°) Sur le développement du tractus génital chez des femelles impubères ou castrées.

4° Sur les modifications cytologiques très apparentes

que la folliculine détermine dans la structure de la muqueuse vaginale chez la femelle ovariectomisée.

Le premier et le second procédés exigent un matériel important. Ils ne permettent que très difficilement l'exacte détermination quantitative qui est nécessaire à notre étude, car les facteurs de temps et de milieu qui interviennent dans la survie d'un organe isolé sont autant d'éléments variables qui peuvent modifier sa réponse.

Le troisième est également d'interprétation difficile; pour discriminer chez le rat imputèbre la part qui revient dans les modifications observées, à l'action propre de la folliculine administrée et celle qui dépend de l'activité naissante de l'ovaire il faut employer un important matériel animal. Chez le rat castré l'appréciation du développement des cornes utérines n'est qu'approximative, dans l'ignorance où l'on se trouve du degré d'atrophie atteint par les organes génitaux de l'individu.

Ces méthodes ont l'inconvénient, au surplus, d'exiger un matériel animal considérable puisqu'elles nécessitent le sacrifice des sujets d'expérience.

Au contraire l'examen des modifications cytologiques du fluide vaginal se pratique sur l'animal vivant. Il peut se renouveler indéfiniment. C'est un moyen commode et sûr, qui permet de préciser le seuil d'activité d'une substance en diminuant progressivement les doses jusqu'au minimum efficace et de fixer, par conséquent, dans des conditions déterminées, l'étalon nécessaire aux recherches quantitatives.

II. — Emploi de la méthode basée sur les sur les signes vaginaux

A) PRINCIPE

Durant les périodes de repos sexuels, la période pré-pubère, le dioestrus, la sénilité et la castration, la muqueuse vaginale possède les caractères communs à la plupart des muqueuses externes normales; elle est humide, brillante et lisse, recouverte de nombreux leucocytes. A ce moment le produit d'un prélèvement opéré à sa surface, placé entre lame et lamelle avec une goutte de colorant, sous le microscope — ce que nous appellerons désormais du nom elliptique de « frottis vaginal », — révèle la présence de très nombreux polynucléaires et de quelques cellules épithéliales, noyés dans un mucus épais et filant.

Au moment de l'œstrus ou sous l'action d'une certaine quantité de folliculine étrangère à l'organisme, la muqueuse vaginale devient sèche et desquame activement son épithélium et sa couche cornée. Dans les frottis vaginaux, les leucocytes sont de moins en moins nombreux tandis qu'apparaissent des cellules kératinisées. Ces dernières ont tendance à s'agglomérer, et leur abondance, à l'exclusion de tout autre élément, sous la forme d'un magma caséeux, est caractéristique du point culminant de l'œstrus.

Entre les extrêmes du cycle œstral, les frottis vaginaux sont constitués par des préparations mixtes où voisinent en proportions variables les leucocytes, les cellules épithéliales et les cellules cornées.

L'apparition des cellules cornées en abondance avec

disparition des autres types cellulaires est le signe caractéristique de l'œstrus provoqué, tel qu'il est conçu par DOISY, RALLS, etc., dans la définition de l'unité rat *.

Donc la plus petite quantité de substance nécessaire pour déterminer chez un rat ovariectomisé l'apparition de cellules kératinisées à l'état pur et en magma caséux, renferme une unité-rat de folliculine si le poids du rat est compris entre 120-160 gr. et si l'administration de la substance étudiée est faite par voie sous-cutanée à raison de trois en 12 heures.

B) MATÉRIEL

1. Choix de l'espèce animale.

Nous avons choisi pour l'application de cette méthode la femelle de rat blanc. Son entretien est peu coûteux et ne comporte que des soins ordinaires. Sa taille convient parfaitement à nos expériences, assez grande pour donner de la commodité aux examens vaginaux, assez petite pour ne pas exiger l'emploi de doses volumineuses des produits étudiés. Beaucoup plus docile que la souris toujours agressive, le rat s'accoutume en peu de temps aux manipulations qui lui sont imposées même sans précautions. Enfin c'est un animal robuste qui supporte mieux que le cobaye ou la lapine l'ovariectomie.

2. Ovariectomie des animaux.

Nous pratiquons l'ovariectomie sur de jeunes femelles de quatre à six mois n'ayant pas porté. A cet âge l'in-

* L'œstrus complet avec modifications utérines et psychiques ne se produit que sous l'influence de doses beaucoup plus élevées de folliculine (MARRIAN et PARKES) [38].

tervention est favorisée par l'état général et l'intégrité des organes génitaux. Nous veillons, autant que possible, à opérer ces animaux en période de repos sexuel pour éviter la congestion des organes génitaux qui expose à des hémorragies.

L'opération est précédée d'un jeûne de vingt-quatre heures; elle est faite sous anesthésie générale selon la technique utilisée pour les petits animaux. Le rat est emprisonné sous une cloche de verre où est placé un tampon d'ouate imbibé d'éther anesthésique du codex. Il en est sorti dès qu'il chancelle. Pour éviter les dangers d'une atmosphère trop riche en éther, l'anesthésique est introduit en même temps que l'animal. Au cours de l'intervention le sommeil est entretenu, au besoin, par inhalations.

Le rat est assujéti par les membres sur une planchette en X; il y est couché sur le dos, les pattes en extension forcée. La paroi abdominale est largement rasée, lavée à l'alcool, et désinfectée par une application de teinture d'iode dédoublée.

Technique opératoire.

L'opération est pratiquée aseptiquement.

Le matériel nécessaire comporte : quatre pinces à champ, une paire de ciseaux moyens, un petit bistouri convexe, une sonde cannelée, une pince droite, fine, sans dents, une pince courbe, fine, sans dents, deux pinces fines à dents de souris, une paire de petits ciseaux effilés, une aiguille de Reverdin très fine, des champs carrés, ouverts, de 20 cm. de côté, des compresses de gaze, de la soie n° 0, des agrafes et une pince Michel, du coton hydrophile, du collodion.

L'animal est placé entre l'opérateur et son aide *, assis de chaque côté d'une table, un champ est fixé sur lui de façon à ne laisser apparaître que le partie médiane et postérieur du ventre.

Inciser la peau sur une longueur de 1 cm. sur la ligne médiane, depuis un point situé à 15 millimètres en avant du bord antérieur du pubis. Inciser la ligne blanche. Le péritoine est saisi avec une pince mousse et ponctionné à une extrémité, avec la pointe du bistouri. Sur la sonde cannelée introduite par l'orifice de ponction, ouvrir avec le bistouri renversé une brèche de la séreuse égale à celle de la paroi musculo-cutanée.

Par cette ouverture que l'aide maintient largement ouverte **, porter la pince recourbée à extrémités mous-ses dans la région lombo-dorsale du flanc, à la recherche des organes génitaux. La bifurcation utérine est trop postérieure et trop fixe pour être un repère utile. On peut atteindre et ramener soit l'ovaire, soit la corne utérine, soit le plus souvent une importante masse graisseuse qui enrobe ces organes et permet de les repérer.

La corne utérine a l'aspect d'un tube flexueux, atone, cylindrique, blanc rosé, large d'à peine un millimètre. Parfois elle est plus volumineuse, congestionnée, sillonnée de vaisseaux, ou même distendue, opalescente et atteignant 3-4 millimètres de diamètre si le sujet opéré n'est pas en repos diœstral. Elle se différencie toujours de l'intestin grêle plus large, aplati en ruban chez ces animaux à jeun, animé par l'air et le froid d'un peristal-

* Il est possible d'opérer seul, mais le secours d'un aide rend l'intervention beaucoup plus rapide.

** Si l'on opère seul, se servir d'un petit blépharostat.

tisme plus ou moins accusé, coloré en rouge sombre et parcouru de reflets brun-verdâtres ou mordorés.

Directement ou en suivant la corne utérine, on parvient à l'ovaire. Il se présente sous l'aspect d'une petite masse blanc grisâtre, grumeleuse, en grappe serrée ponctuée de tubercules opalescents : les follicules de De Graaf, de petits points noirs hémorragiques, ou de corps jaunes.

L'aide prend cet ovaire avec une pince à dents de souris, par son pédoncule et en évitant avec grand soin de traumatiser le tissu noble. Il l'attire le plus possible au dehors sans violence. Perforer au-dessous de la glande la mince membrane transparente du ligament large et pratiquer à la faveur de l'ouverture ainsi ménagée deux ligatures : l'une en avant sur le ligament suspenseur de l'ovaire et l'artère utéro-ovarienne, l'autre en arrière sur la corne et l'artère utérines. Entre ces ligatures faire en deux coups de ciseaux l'ablation de l'ovaire sans lacher la corne utérine. Exciser largement l'ovaire de part et d'autre, toujours en prenant soin de ne pas le blesser, afin d'éviter que des fragments ne tombent dans la cavité abdominale et ne s'y greffent.

En suivant le tronçon subsistant de la première corne, repérer la bifurcation utérine. Remonter l'autre corne qui permet d'accéder au second ovaire et de l'extirper comme le premier.

Remettre les organes en place. Terminer par deux plans de sutures, l'un musculaire en deux ou trois points séparés à la soie, l'autre cutané en surjet ou avec les agrafes Michel. Badigeonner la plaie à la teinture d'iode dédoublée, laver à l'éther et recouvrir d'un pan-

sement de gaze fixé au collodion. Placer l'opéré au chaud dans une cage garnie d'ouate ou de coton cardé et lui restituer dès le lendemain son régime alimentaire normal. Après six à huit jours la cicatrisation est achevée. Pansement et sutures tombent d'eux-mêmes ou du moins l'animal s'en débarrasse en temps opportun.

Quinze jours après l'opération les rats ainsi traités peuvent, théoriquement, offrir les caractères d'un anæstrus parfait. Leurs frottis vaginaux ne doivent contenir exclusivement que des leucocytes.

En fait nous constatons souvent chez certains de ces animaux des variations dans la composition du fluide vaginal.

Ces variations n'obéissent à aucun rythme mais elles atteignent des proportions importantes. Elles pourraient, rarement il est vrai, se confondre avec de vrais cycles œstraux. Nous supposons qu'il s'agit d'une réelle activité génitale sur des sujets mal opérés et porteurs d'une greffe ovarienne. Peut-être l'ovaire, après ablation totale, pourrait-il se régénérer comme le prétendent PARKES, FIELDING et BRAMBELL [39].

Ce fait a une très grande importance. Il oblige à surveiller constamment les rats d'expérience, et à procéder avant tout essai, à l'examen des frottis vaginaux de chaque sujet au moins pendant deux jours. Il faut écarter tout animal ne présentant pas à ce moment les signes d'un repos sexuel complet, sous peine d'infirmier singulièrement les réponses cherchées.

Ce contrôle permet une appréciation facile des réactions, car les variations spontanées ont une évolution

lente et comme hésitante, tandis que les variations expérimentales ont une caractère explosif.

Les sujets qui présentent en permanence des irrégularités de grande amplitude, sont à éliminer définitivement et peuvent être opérés de nouveau.

3. Entretien des rats ovariectomisés.

Pour obtenir un maximum de sécurité, il convient de placer les animaux d'expériences dans des conditions constantes de température, d'aération et surtout d'alimentation. La carence de certaines graisses serait responsable de la persistance anormale des cellules cornées dans le fluide vaginal. Le régime uniforme conseillé par SIMONNET comprend :

Poudre de lait écrémé.....	2 parties
Avoine }	 1 partie
Maïs }	

additionné de 1 gramme de jaune d'œuf desséché par rat et par jour. Une fois par semaine nous remplaçons le jaune d'œuf par de la viande crue : environ 10 grammes par rat *.

4. Utilisation des rats ovariectomisés.

Examen du fluide vaginal.

Le matériel nécessaire à l'examen du fluide vaginal se compose :

1) D'une öse faite d'un fil de nickel, de la grosseur d'une épingle ordinaire, formant une bouche de trois à quatre millimètres de diamètre à l'une de ses extrémités et fixé par l'autre à une manche quelconque, par exemple une grosse baguette de verre.

* Des pesées périodiques nous confirment que les animaux se maintiennent à un poids convenable : environ 140 grammes.

2) D'un microscope.

3) De lames et lamelles.

4) D'une solution à 2 pour cent de bleu de méthylène dans l'eau salée; ce colorant est celui qui nous a donné les meilleurs résultats.

5) D'une flamme de gaz ou d'alcool.

Pour préparer un frottis à partir du fluide vaginal prendre le rat à examiner dans la main gauche et l'y maintenir solidement étendu sur le dos. Verser une goutte de bleu de méthylène sur l'extrémité d'une lame. Au moyen de la curette chargée de colorant, prélever avec la plus grande douceur un échantillon de l'enduit plus ou moins fluide qui recouvre la muqueuse vaginale. Étendre ce prélèvement sur la partie sèche de la lame en une couche mince et uniforme; diluer au besoin avec un peu de colorant. Recouvrir d'une lamelle et porter sous le microscope. Flamber la curette.

L'examen peut se faire sous un seul grossissement assez fort (objectif 8) (Stiassnie) en plusieurs endroits de la préparation, ou, mieux, en deux temps; examen d'un point de la préparation, au grossissement précédent, pour apprécier sa composition, puis examen d'un champ beaucoup plus étendu à un grossissement plus faible (objectif 4) pour s'assurer que l'ensemble du frottis est bien homogène. Il peut arriver en effet que dans un prélèvement composé presque exclusivement de leucocytes, on trouve un petit groupe erratique de cellules kératinisées dont la présence n'a aucune signification, mais qui pourrait fausser un examen trop hâtif fait d'un seul coup d'œil.

Nous savons déjà que l'examen microscopique ré-

vèle la présence en proportions variables d'éléments cellulaires appartenant à trois types :

a) leucocytes polynucléaires,

b) cellules épithéliales ovoïdes à grands noyaux sphériques.

c) cellules kératinisées, anuclées, de contour polygonal irrégulier, chiffonnés et réunies lorsqu'elles abondent en amas compacts, donnant aux frottis un aspect macroscopique caséeux.

Pour donner à nos observations un caractère homogène et précis, nous dotons chacun de nos rats, d'une fiche du modèle ci-après où sont portées les réponses des examens qu'il a subi avec l'indication des essais auxquels il a servi. Nous avons adopté pour inscrire les résultats de nos examens, et chiffrer l'abondance des différents types de cellules dans les préparations, la notation suivante :

cellules absentes ou très rares.. = —

cellules peu nombreuses..... = +

cellules nombreuses..... = + +

cellules très nombreuses..... = + + +

cellules en amas caséeux..... = + + + c

ce dernier signe n'est employé que pour les cellules cornées.

C'est ainsi que, par exemple, un frottis renfermant quelques cellules épithéliales et de nombreuses cellules kératinisées, sans aucun leucocyte sera représenté par la formule suivante :

(Leucocytes)	(Epithéliales)	(Kératinisées)
—	+	+ + +

Sur chaque fiche portant l'identité du rat auquel elle

appartient, nous indiquons la date et l'heure des examens, et leur résultat selon la convention établie ci-dessus.

Date	Heure	Série B. — N° 1		
		Réponse		
		L	E	K
13.II.31	15	+++	—	—
14.II.31	15	+++	—	—
15.II.31	Injections urine B:			
	8 H.	1 cm ³		
	12 H.	1 cm ³		
	17 H.	1 cm ³		
16.II.31	17	+	++	+++
17.II.31	8	—	+	+++ c
	13	—	+	+++ c
	17	—	—	+++ c
25.II.31	14	+++	+	—
27.II.31	15	+++	+	—
1.III.31	14	+++	—	—
3.III.31	17	+++	—	—

L. = leucocytes — E. = cel. épithéliales —

K. = cel. kératinisées

Modèle de Fiche d'inscription des rats en expérience

Cette fiche porte l'inscription complète d'un essai, avec deux examens préalables (anoestrus parfait) et quatre examens après l'injection d'une urine ayant provoqué une réaction positive très nette.

Elle indique du 25 février au 3 mars les examens de surveillance du sujet.

CHAPITRE III

Le Diagnostic de Gestation

I. — Technique des essais

A) PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DE L'URINE

L'urine est prélevée le matin avant tout repas (*). Elle peut être recueillie par catéthérisme. A ce sujet une critique peut nous être adressée en réponse à celle que nous avons infligée à certains procédés cliniques de diagnostic: exploration vaginale, exploration rectale. Mais le catéthérisme de l'urèthre chez la jument, même chez la jument de pur sang est une opération bénigne qui peut dans beaucoup de cas se pratiquer sous le couvert d'une contention réduite. Il n'entraîne que peu de manipulations en regard des méthodes d'investigations manuelles que nous lui comparons.

Il faut avouer pourtant qu'il offre parfois de sérieuses difficultés et qu'il est à proscrire chez des juments particulièrement nerveuses ou rétives.

La patience permet d'y suppléer dans ces circonstances. Comme tous les animaux de luxe, les juments

* Il est bon pour réduire au minimum les causes d'erreurs, de s'assurer que la jument n'est pas en chaleur en la présentant au mâle.

de sang, assujetties à une vie méthodiquement réglée, acquièrent une discipline hygiénique que connaissent bien les éleveurs et les palefreniers de haras. Beaucoup d'entre elles contractent l'habitude d'uriner chaque matin au sortir de leur box. Il est facile à ce moment de faire recueillir, par une personne que la jument connaît et ne craint pas, la quantité d'urine nécessaire dans un récipient très propre.

La plupart des urines que nous avons étudiées au cours de nos expériences personnelles, ont été recueillies par ce procédé.

L'urine, dès que possible après son prélèvement, est grossièrement filtrée sur papier Chardin ou même simplement sur coton pour la débarrasser des grosses impuretés qu'elles peut contenir : poils, poussières, etc... Puis elle est stérilisée par un séjour d'un quart d'heure au bain-marie bouillant, dans un flacon, ballon ou fiole d'Erlenmeyer, de préférence en Pyrex, bouché par un tampon d'ouate légèrement humecté, afin de réduire au minimum l'évaporation.

Cette stérilisation à chaud est préférable aux méthodes de filtrage, longues et peu sûres. Grâce à elle, nous n'avons pas eu à redouter l'infection des animaux d'expériences, et l'urine est facile à conserver.

Nous nous sommes assurés que cette stérilisation ne pouvait modifier les résultats de nos dosages. Bien qu'il soit démontré que la folliculine résiste à la chaleur, reportant cette étude sur le terrain plus étroit où nous évoluerons, nous avons examiné la thermostabilité de la folliculine dans l'urine, en faisant quelques expériences portant sur des urines de femmes enceintes de six à huit mois, donc riches en folliculine.

α) Dans une première série d'essais, l'urine portée dix minutes au bain-marie à 100°, n'a montré aucune altération de son activité sur des femelles de rat castrées par comparaison avec les résultats obtenus avec les urines témoins. (Tableau I.)

TABLEAU I

Activité de l'urine chauffée à 100° pendant 10 minutes.

Réactif : rat ovariectomisé

Matériel : urine de femme en gestation.

Méthode : examen du frottis vaginal.

DATE DES ESSAIS	AGE de la gestation	DOSE des injections	RÉPONSES	
			Urine fraîche	Urine chauffée
4 II-31	7 mois	2 cm ³	+	+
		1 cm ³	+	+
8-II-31	8 mois	2 cm ³	+	+
		1 cm ³	+	+

β) Une deuxième série d'expériences a été faite à des températures plus élevées. Plusieurs prélèvements d'urine furent divisés chacun en trois échantillons, dont l'un fut laissé à l'état brut, le second soumis à une température de 100° pendant trente minutes et le troisième à un séjour de quinze minutes à l'autoclave à 120°. Les essais furent poursuivis sur ces divers échantillons en diminuant progressivement les doses injectées aux sujets jusqu'au dessous de la quantité efficace. L'activité a persisté intégralement dans les urines traitées. (Tableau II.)

TABLEAU II

Activité d'urine chauffée à 100° pendant 30 minutes
et à 120° pendant 15 minutes

PREMIÈRE PARTIE. Matériel : urine de femme en gestation.

Réactif : rat ovariectomisé.

Méthode : examen du frottis vaginal.

Date des essais	Age de la gestation	Dose des injections	Réponses		
			Urine fraîche	Urine chauffée à 100°	Urine chauff à 120°
11-III-31	6 mois	2 cm ³	+	+	+
1-V-31	5 mois	1 cc 1 cc, 5 2 cc	— suj mort +	N'a pas été essayée	± + +
8-V-31	5 mois	0 cc. 5 1 cc	— ±	id	— +

DEUXIÈME PARTIE. Matériel : urine de femme en gestation.

Réactif : souris impubère.

Méthode : réaction ovarienne.

(Nota : tous les sujets ont reçu 10 injections de 0 cc 3 d'urine)

DATE des essais	AGE de la gestation	NUMÉROS de Série	RÉPONSES		
			URINE fraîche	URINE chauffée à 100°	URINE chauffée à 120°
11-II-31	6 mois	A1	+	+	+
		A2	+	+	+
1.V.31	5 mois	B1	+	N'a pas été essayée	+
		B2	+		+
		B3	+		+
		B4	+		+

γ) Au cours d'une dernière épreuve, nous avons soumis deux échantillons sur trois de même urine à 120° pendant quinze minutes, le premier étant additionné d'une quantité suffisante d'acide chlorhydrique pour obtenir un PH voisin de 5 (*), le second étant alcalinisé à la soude jusqu'aux environs du PH: 8. Cette fois encore, les réponses obtenues avec les urines chauffées furent absolument identiques à celles que donnent les urines brutes. (Tableau III.)

TABLEAU III

Activité des urines chauffées en milieu acide ou basique
à la température de 120° pendant 15 minutes.

Matériel : urine de femme enceinte.

Réactif : rat ovariectomisé.

Méthode : examen du frottis vaginal.

Date des essais	Age de la gestation	Dose des injections	Urine fraîche	Réponses	
				Urine chauffée à 120°	
				Ph : 5	Ph : 8,2
15 V. 31	6 mois	1 cm ³ 1 cm ³	+	+	+
					+
				Ph : 4,8	Ph : 8
17 V 21	6 mois	0 cm ³ , 5 0 cm ³ , 5	± —	— ±	± ±

* LIPSCHÜTZ [40] a soumis l'urine de jument pleine à l'action de l'acide chlorhydrique à 10 pour cent sous une température de 100°. Les phénomènes consécutifs d'hydrolyse semblent accroître le taux d'activité de folliculine qui passe de 10.000 unités-rat à 50.000.

Nous employons directement l'urine ainsi préparée sans l'acidifier et sans la traiter par l'éther, comme le fait et le conseille ZONDEK. Ce traitement est en effet inefficace contre les germes, tout au plus peut-on espérer éliminer quelques substances toxiques. Par ailleurs, il est susceptible d'enlever une quantité indéterminée de folliculine. Aux doses de un à quatre cm³ que nous n'avons pas dépassées, l'urine ne s'est jamais montrée toxique, et la mesure de son activité se traduit par des chiffres correspondants à ceux qu'ont cité différents auteurs (CREW, MILLER et ANDERSON [32]).

B) MODE D'ADMINISTRATION DES URINES

Chaque essai est fait au moins en double, sur des rats choisis après une observation de 48 heures prouvant qu'ils sont en anœstrus parfait.

Ces sujets reçoivent la quantité d'urine à étudier en trois injections hypodermiques du tiers chacune de la dose totale; la première est faite le matin vers huit heures, la seconde à midi et la dernière vers seize heures.

Au début nous avons essayé chaque urine en injectant à plusieurs séries de rats des doses échelonnées entre 1 et 4 cm³. Une réponse positive à cette dernière dose implique la présence de 250 u. r. de folliculine dans un litre de l'urine examinée et permet de prétendre qu'elle provient d'une jument en gestation.

Par la suite, ayant à étudier des urines provenant de juments saillies depuis 80 jours en moyenne, nous n'avons plus employé que la dose de 3 cm³. A cette époque, elle suffit pour déterminer une réaction franchement positive (si l'urine est celle d'une jument pleine)

et elle garantit d'autant mieux la gestation qu'elle indique un taux de folliculine supérieur à 300 u. r. par litre.

A la suite des injections, la résorption est généralement bonne.

C) RECHERCHE ET INTERPRÉTATION DES RÉPONSES

Le premier examen du fluide vaginal se fait 24 heures après la dernière injection, soit le lendemain soir. Il est rare qu'il offre des résultats très nets. Toutefois, si l'essai doit provoquer une réaction positive, c'est-à-dire l'apparition du cycle œstral, ce premier frottis révèle un début de réaction par la présence de nombreuses cellules épithéliales et même de quelques cellules cornées.

Le jour suivant, trois examens sont faits à intervalle de cinq ou six heures. Ils déterminent le caractère de la réponse. Elle est:

1) positive quand l'un, au moins, de ces trois frottis renferme exclusivement des cellules kératinisées à l'état de magma caséux.

2) douteuse quand, au sein des préparations, les cellules kératinisées se montrent abondantes, mais accompagnées de cellules épithéliales en nombre appréciable (plus de vingt par champ sous un grossissement de 200 fois). Cette réponse est à préciser par un nouvel essai.

3) négative dans tous les autres cas.

II. — Recherches expérimentales

A) OBSERVATIONS ANTÉRIEURES

Employé selon les diverses techniques possibles, le

dosage biologique de la folliculine dans l'urine a déjà donné d'excellents résultats dans le diagnostic précoce de la gestation chez la jument.

ZONDEK [17], en utilisant le rat femelle impubère dont il examine la réaction vaginale, obtient sur 80 juments les résultats, suivants:

pour 9 juments non saillies, 9 réponses négatives;

pour 17 juments saillies, mais non fécondées, 16 réponses négatives et une réponse douteuse;

pour 54 juments fécondées, saillies depuis 75 à 260 jours, 53 réponses positives et une réponse douteuse.

KUST [41], décèle la folliculine par injection à des souris infantiles ou castrées. Il conclut de ses travaux que l'urine de jument en gestation renferme une unité souris par gramme, à partir de la dixième semaine qui suit la fécondation, soit par litre, 250 unités-rat.

Ses expériences portent sur 171 juments saillies. Il note:

46 réponses négatives sur des sujets reconnus cliniquement vides;

122 réponses positives et 3 réponses douteuses sur des sujets réellement fécondés.

Il obtint donc plus de 98 réponses justes sur 100.

SCHAPER [42], utilise la méthode de ZONDEK et examine 31 urines de juments. Il observe:

pour 13 juments pleines, 13 résultats positifs, dont un, deux jours avant la mise bas et un autre 59 jours après le coït;

pour le reste, 18 résultats négatifs concernant des juments non fécondées, récemment accouchées ou pleines de moins d'un mois.

CREW, MILLER et ANDERSON [32], emploient l'urine prélevée par cathétérisme, traitée par l'acide sulfo-salicylique et neutralisée. Leur réactif est la souris ovariectomisée avec examen de la réaction vaginale. Ils exigent pour assurer la gestation, la présence de mille unités-souris par litre d'urine et affirment que l'épreuve est sûre à partir du 60^e jour.

Sur 390 sujets, ils ne relèvent que trois résultats erronés qu'ils attribuent à l'avortement insoupçonné ou aux tumeurs ovariennes.

* Cette expérience conduite sur une grande échelle ramène à moins de 1 pour cent le coefficient d'erreur de la méthode.

Cependant celle-ci ne s'affirme pas aussi sûre chez toutes les espèces. Si BÖLOSHAZY [43], constate des résultats positifs avec des urines de vaches pleines depuis plus de cinq semaines, HELM [44] a tenté sans succès d'appliquer ce mode de diagnostic à la chienne.

B) OBSERVATIONS PERSONNELLES

Voici les résultats détaillés des quelques expériences que nous avons pu faire sur des juments de pur sang au Haras de la Tapera, aux Bréviaires (S.-et-O.).

Chacun de nos essais a été conduit selon la technique que nous avons précédemment exposée.

Première observation

« Juanita », jument baie, née en 1921, par « Tracery » et « Miss Spendthrift », saillie le 4 avril 1931.

Essai au 1^{er} juin 1931.

Age de la gestation : 57 jours.

Titrage :

Dose injectée	Réponse
1 cc.	—
2 cc.	—
3 cc.	—
4 cc.	+

Taux de la folliculine : 250 u. r. par litre.

Réponse positive au 57^e jour, confirmée par accouchement.

Deuxième observation

« Henriette », jument alezane, saillie le 15 avril 1931.

Essai au 10 juillet 1931.

Age de la gestation : 86 jours.

Titrage :

Dose injectée	Réponse
1 cc.	—
2 cc.	—
3 cc.	+

Taux de la folliculine : 330 u. r. par litre.

Réponse positive au 86^e jour, confirmée par avortement au 6^e mois.

Troisième observation

« Poésie », jument baie, née en 1926, par « Cannobie » et « Prude », saillie le 6 mai 1931.

Essai au 1^{er} juillet 1931.

Age de la gestation : 55 jours.

Titrage :

Dose injectée	Réponse
1 cc.	—
2 cc.	—
4 cc.	—

Taux de la folliculine inférieur à 250 u. r. par litre.

Essai du 17 juillet 1931.

Age de la gestation : 72 jours.

Titrage :

Dose injectée	Réponse
1 cc.	—
2 cc.	—
3 cc.	+

Taux de la folliculine : 330 u. r. par litre.

Réponse positive au 72^e jour, confirmée par accouchement.

Quatrième observation

« Nancucha », jument baie, née en 1925, par « Alcantara II »
et « Catherine Swinford », saillie le 19 mai 1931.

Essai du 24 juillet 1931.

Age de la gestation : 66 jours.

Titrage :

Dose injectée	Réponse
1 cc.	—
2 [*] cc.	—
3 cc.	+

Taux de folliculine : 330 u. r. par litre.

Réponse positive au 66^e jour, confirmée par l'accouchement.

Cinquième observation

« Perpetua », jument baie, saillie le 17 mai 1931.

Essai du 17 juillet 1931.

Age de la gestation : 60 jours.

Titrage :

Dose injectée	Réponse
2 cc.	—
3 cc.	—
4 cc.	—

Taux de follicule inférieur à 250 u. r. par litre.

Essai du 30 juillet 1931.

Age de la gestation: 73 jours.

Titrage :

Dose injectée	Réponse
1 cc.	—
2 cc.	—
3 cc.	+

Taux de folliculine : 330 u. r. par litre.

Réponse positive au 73^e jour, confirmée par accouchement.

Sixième observation

« Poésie », saillie le 12 mai 1932.

	Essai du 8 juillet 1932	Essai du 16 juillet 1932
Age de la gestation,	87 jours	95 jours
Dose d'urine injectée,	3 cc.	1 cc.
Réponse,	+	+

Réponse positive au 87^e jour, confirmée par signes cliniques au septième mois.

Septième observation

« Sabandija », jument alezane, née en 1923, par « Tracery » et « Codorosa », saillie le 16 mai 1932.

	Essai du 8 juillet 1932	Essai du 16 juillet 1932
Age de la gestation,	83 jours	91 jours
Dose d'urine injectée,	3 cc.	1 cc.
Réponse,	+	+

Réponse positive au 83^e jour, confirmée par signes cliniques au septième mois.

Huitième observation

« Nancucha », saillie le 25 mai 1932.

	Essai du 8 juillet 1932	Essai du 16 juillet 1932
Age de la gestation,	75 jours	83 jours
Dose d'urine injectée,	3 cc.	1 cc.
Réponse,	+	+

Réponse positive au 75^e jour, confirmée par signes cliniques au sixième mois.

Neuvième observation

« Reïnosa », jument alezane, née en 1928, par « Monarch » et « Reine Constante », saillie le 6 mai 1932.

	Essai du 8 juillet 1932	Essai du 16 juillet 1932
Age de la gestation,	93 jours	101 jours
Dose d'urine injectée,	3 cc.	1 cc.
Réponse,	+	+

Réponse positive au 93^e jour, confirmée par signes cliniques au septième mois.

Dixième observation

« Lagartiga », jument baie, née en 1925, par « Captain Cutle » et « Track », saillie le 16 mai 1932.

	Essai du 8 juillet 1932	Essai du 16 juillet 1932
Age de la gestation,	83 jours	91 jours
Dose d'urine injectée,	3 cc.	1 cc.
Réponse,	+	+

Réponse positive au 83^e jour, confirmée par signes cliniques au septième mois.

En résumé, nous avons obtenu sur dix sujets, autant de réponses positives confirmées ultérieurement par la mise bas, l'avortement ou les signes cliniques évidents de la fin de la gestation.

Ces résultats venant confirmer ceux qu'avaient obtenus les auteurs que nous avons cités nous permettent de croire fermement à la valeur du diagnostic précoce de la gestation par le dosage biologique de la folliculine dans l'urine.

Cependant devant la défaillance accusée par l'une de nos expériences au soixantième jour de la gestation, nous pensons qu'il serait bon de reporter à soixante-dix jours le délai de certitude nécessaire au diagnostic.

III. — Modalités de l'application pratique

Cette méthode n'est pas susceptible d'application directe entre les mains du vétérinaire praticien. Si elle est simple dans son principe, sa technique offre des difficultés que nous avons signalées: préparation, entretien et observation du matériel animal. Elle exige des soins et du temps que le praticien ne peut lui consacrer aux dépens d'obligations plus pressantes.

Il ressort de cet énoncé que la méthode est et doit rester un procédé de laboratoire au même titre que beaucoup d'autres diagnostics biologiques. Nous sommes amenés naturellement à l'idée d'employer dans le cas présent le moyen déjà utilisé pour l'application de ces autres techniques: la création de stations de recherches. C'est une proposition déjà exprimée par les auteurs anglais CREW, MILLER et ANDERSON [32] à la suite de leurs importantes recherches. L'installation d'un laboratoire spécialisé est d'autant plus facile à tenter qu'elle n'implique la possession d'aucun matériel coûteux.

De là cependant, peut naître une objection: le procédé déjà long par lui-même — il demande un délai d'au moins trois jours — le devient à l'excès. S'il faut ajouter le temps nécessaire pour l'envoi d'une urine au laboratoire et la réception d'un avis, c'est presque une semaine qui sépare le prélèvement d'une urine et la réponse à son sujet.

Ce délai de huit jours devient incompatible avec les opérations commerciales, s'il s'agit d'animaux mis en vente sous le titre de juments présumées pleines, dont ce titre justifie la surenchère et pour lesquels les transacteurs recherchent une garantie.

Pour obvier à cet inconvénient, nous pensons qu'il serait possible de faire établir la diagnostic antérieurement. L'acheteur désireux de placer sur le marché une jument saillie depuis trois à quatre mois et qui veut s'assurer de sa fécondation, chargera un vétérinaire de procéder au prélèvement d'urine nécessaire. Il est inutile d'insister sur l'obligation absolue du vétérinaire de pratiquer lui-même ou de surveiller en personne ce prélèvement pour éviter toute erreur, voire toute fraude. Il expédiera l'urine stérilisée à chaud, à la station d'étude. Il attendra sa réponse et pourra, d'après celle-ci, délivrer un certificat déclarant qu'à la date du prélèvement la jument signalée a été reconnue en état de gestation.

Nous n'avons pas la prétention d'apporter, malgré cet avis scientifiquement autorisé, une certitude absolue, une garantie indiscutable dont l'acheteur pourrait, le cas échéant, se prévaloir en justice contre son vendeur. Le test biologique est par cette qualité même entaché d'erreurs, si rares soient-elles. Plusieurs obstacles, dont le principal nous paraît être l'avortement insoupçonné, lui interdisent le titre de garantie officielle.

Cet argument peut nous être opposé, pour prétendre que la méthode n'est qu'une curiosité de laboratoire. Nous répondrons en élayant notre conviction personnelle sur l'opinion plus avertie de praticiens d'une compétence certaine: faut-il dénier tout intérêt à une méthode parce qu'elle ne peut apporter autre chose qu'une garantie réservée ? Faut-il compter pour rien les renseignements cependant sérieux qu'elle donne ?

Sur le marché, le vendeur acquiert le droit d'exiger un prix plus élevé d'une jument dont un examen scien-

tifique affirme la gestation et porte la présomption au plus proche voisinage de la certitude. L'acheteur s'assure un bénéfice réel par l'acquisition d'animaux ainsi contrôlés: il voit s'abaisser jusqu'à une proportion infime le nombre de femelles vides qui constituait pour lui un grave déficit.

Conclusions

Dans ce travail, nous nous sommes demandé s'il était possible d'appliquer à la jument de pur sang les méthodes biologiques employées chez la femme au diagnostic de la gestation.

A défaut de l'hormone gonadotrope qui ne paraît exister que chez les Primates, nous avons choisi comme test biologique le dosage de la folliculine.

Il nous est apparu au cours de nos premières expériences que ce dosage était plus commode et plus rapide dans l'urine que dans le sang.

Nous avons voulu démontrer que ce test biologique de la gestation était un procédé sûr, précoce et pratique.

Sûr parce que nos expériences venant à la suite des observations recueillies par d'autres auteurs, ont confirmé l'extrême petitesse du coefficient d'erreur du diagnostic.

Précoce puisque, bien avant que ne puisse répondre tout autre méthode actuellement connue, le test de la folliculine décèle la gestation à partir du soixante-dixième jour.

Pratique enfin, en dépit d'une certaine complexité de sa technique parce qu'il ne comporte aucune opération difficile, parce qu'il n'exige aucun matériel coûteux, et

parce qu'il est possible de pallier à ses principaux inconvénients en créant, pour son application, des laboratoires spécialisés comme il en existe à l'étranger, par exemple en Hollande et en Angleterre.

Nous avons tenu à développer en marge de cette étude critique, une description scrupuleuse des techniques de la méthode, afin de supprimer autant que possible les causes d'erreurs inhérentes à son emploi.

Et nous croyons que dans les transactions, dans la sélection des géniteurs, dans la production méthodique des poulains, le test biologique de la gestation chez la jument par le dosage de la folliculine dans l'urine, apporte une solution utile, sinon parfaite, aux questions que nous avons exposées au début de cette thèse.

Vu, le Doyen :
BALTHAZARD.

Vu, le Président :
BRINDEAU.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLETY.

Bibliographie

- [11]. — ACHARD (Ch.), BENARD (H.) et GAGNEUX (Ch.). — Leuco-réactions génitales. Leuco-diagnostic de la grossesse. *C. R. Soc. Biol.*, 1910, 68, 159-161.
- [43]. — BÖLOSHAZY (K.). — A tehen vemhességének Korai megallapitása a vizelet petefeszekhor-montartalmanak Kimutatásával. *Berl. Fier. Woch.*, 1930, 46, 166.
- [21]. — BICKER (K. J.), MELLISH (C. N.), d'AMOUR (F. E.) AND GUSTAVSON (R. G.). — A comparison of the rat and mouse units in the assay of the female sex hormone. *Journ. Pharmacol. exp. Ther.*, 1931, 43, 693-695.
- [30]. — BROUHA (L.) et SIMONNET (H.). — Le liquide folliculaire et la sécrétion interne de l'ovaire. *Bruxelles Med.*, 1927, n^{os} 42, 44 et 45.
- [31]. — BROUHA (L.) et SIMONNET (H.). — Recherches sur la distribution de la folliculine dans l'organisme. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 96, 155.
- [36]. — BROUHA (L.) et SIMONNET (H.). — Recherches expérimentales sur la régulation hormonale de la contractilité utérine. *Archiv. internat. Physiol.*, 1927, 27, 94-120.
- [7]. — BULLOCH (J.). — Acetonurie, its value on a Diagnostic test in pregnancy. *Oklohama State Medic. Assoc.*, 1930, 23, 121.

- [16]. — COLE (H. H.) and HART (G. H.). — The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. *Am. Journ. Phys.*, 1930, 93, 57.
- [26]. — COURRIER (R.). — Le cycle sexuel chez la femelle des mammifères. Etude de la phase folliculaire. *Archiv de Biol.*, 1924, 34, 369-474.
- [20]. — COURRIER (R.). — Les hormones sexuelles femelles. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, 107, 1367-1424.
- [32]. — CREW (F. A. E.), MILLER (Wm. C.) et ANDERSON (J.). — Note sur le diagnostic de la gestation chez la jument par le test biologique. *The veterinary journal*, 1931, 87, 450-456.
- [24]. — CURTIS (J. M.) and DOISY (E. A.). — The Bio-assay of Theelol. *The Journ. of Biol. Chem.*, 1931, 91, 647-651.
- [23]. — DOISY (E. A.), VILER (C. D.) and THAYER (S.). — The preparation of the crystalline ovarian Hormone from the urine of pregnant Women. *The Journ. of Biol. Chem.*, 1930, 86, 499-509.
- [13]. — ECAILLE (G.). — De quelques propriétés physiologiques du sérum de femme enceinte. *Thèse de médecine, Paris*, 1917.
- [12]. — FIEUX (G.) et MAURIAC (P.). — Sur quelques cas de sero-diagnostic de la grossesse. *Semaine médicale*, 1910, p. 252.
- [18]. — FRANK (R. F.). — The ovary and the endocri-

- nologist. *Journ. Amer. Medic. Assoc.*, 1922, 78, 181-185.
- [28]. — FREUD (S.). — On the biological tests of the Female (sexual) Hormone: Menformon. *Proceed. second Internat. Congress Sex Research. Londres*, 1930, Oliver et Boyd, 384-387.
- [1]. — FURHIMANN (B.). — Ueber die Senkung der breiten Beckenbänder beim Rinde. *Archiv. für wissenschaft und prakt Tierheil*, 1906, 32, 601-616.
- [44]. — HELM. — Diagnostic de la gestation chez la chienne. (*Tier. Rundschau*, 1931, p. 67) d'après *Rec. Med. Veter.*, 1932, 108, 509.
- [41]. — KUST. — Die Feststellung der Trächtigkeit der Stute durch den Nachweis des ovarialhormons im Harn. *Deuts. tier. Woch.*, 1931, 39, 33-39.
- [35]. — KUST et ZUMBAUM. — Vergleichende Untersuchungen über die Trächtigkeitsfeststellung der Stute durch Hormonnachweis im Harn und im Blute. *Deuts. Tier. woch.*, 1931, 39, 761-763.
- [29]. — LACASSAGNE (A.). — Apparition des cancers de la mamelle chez la souris mâle soumise à des injections de folliculine. *C. R. Acad. Sc.*, 1932, 195, 630.
- [34]. — LAQUEUR (E.), DINGEMANSE (E.), HART (P. C.) und JONGH (S. E. VON). — Ueber das Vorkommen weiblichen Sexualhormons (Men-

- formon) im Harn von Männern (VI. Mitteilung). *Klin Woch*, 1927, 6, 1859.
- [6]. — LINKIES (G.). — Trächtigkeitsnachweis bei der Kuh durch Milchuntersuchung mittel der Alkoholprobe. *Berl. tier woch.*, 1930, 46, 227-228.
- [40]. — LIPSCHUTZ (A.) et POCH (E.). — Sur le mode d'extraction de la folliculine de l'urine de femme gravide. *C. R. Soc. Biol.*, 1932, 111, 856.
- [33]. — LOEWE (S.), VOSS (H. E.), LANGE (F.) und WAHNER (A.). — Sexualhormonbefunde in männlichen Harn. *Klin Woch.*, 1928, 7, 1376-1377.
- [9]. — MANOILOV (E. O.). — Diagnostic de la grossesse au moyen des réactifs chimiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, 106, 913.
- [10]. — MARIANI (M.). — Diagnosi della gravidanza colla reazione novocaïno-formalinica. *La Clinica veterinaria*, 1930 (n° 1), 32-46.
- [38]. — MARRIAN (G. F.) et PARKES (A. S.). — The relative amounts of œstrin required to produce the various phenomena of œstrus. *Journ. Physiol.*, 1930, 69, 372-376.
- [3]. — MARTIN (A.-E.). — Diagnostic radiesthésique en médecine vétérinaire. *Thèse de médecine vétérinaire*, Paris, 1932.
- [4]. — NÖRR (Y.). — Ein neuer Trächtigkeitsnachweis in der Veterinärmedizin durch galvanometrische Aufnahme der Aktionsströme der

- fötalen Herzens. *Berl. tier. woch.*, 1921, 37, 1-6.
- [39]. — PARKES (A. S.), FIELDING (U.) et BRAMBELL (F. W. R.). — Ovarian régénération in the mouse after complete double ovariectomy. *Proced. Roy. Soc., Ser. B*, 1927, 101, 328-354.
- [5]. — PORCHER (Ch.) et COMMANDEUR. — Sur l'origine du lactose. Recherches urologiques chez la femme enceinte. *C. R. Acad. Sc.*, 1904, 138, 862-865.
- [2]. — RICHTER (Y. VON). — Zehn Jahre geburtshilfliche Klinik. *Berl. tier. woch.*, 1921, 37, 397-402. — Das uterin gerausch beim Pferd. *Berl. tier. Woch.*, 1922, 38, 109-111.
- [14]. — RIVOIRE (R.). — Hormones genitales et grossesse. *Presse médicale*, 1931, 34, 621-623.
- [42]. — SCHAPER (W.). — Untersuchungen über die B. Zondeksche Trächtigkeitsreaktion aus dem Harn bei Stuten. *Klin Woch.*, 1931, 41, 1905-1906.
- [19]. — SEABORN (E.) et CHAMPY (C.). — Structure de l'ovaire de la jument et son cycle évolutif en dehors de la gestation. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, 89, 1091.
- [25]. — SIMONNET (H.). — Les Propriétés du liquide folliculaire. *Thèse de médecine vétérinaire, Paris*, 1927, Doin.
- [37]. — SIMONNET (H.). — Titrage biologique des extraits de lobe postérieur d'hypophyse. *Rec. méd. vétér.*, 1927, 103, 605-622.

- [15]. — SIMONNET (H.). — Le diagnostic biologique de la grossesse. *Journ. Pharm. Chim.*, 1931, 13, 292-298 et 340-351.
- [22]. — VELER (C. D.), THAYER (S.) et DOISY (E. A.). — The preparation of the crystalline follicular ovarian Hormone : Theelin. *The Journ of Biol. Chem.*, 1930, 87, 357-371.
- [27]. — ZONDEK (B.). — Die Hormone des Ovarium und des Hypophysenvorderlappens; Untersuchungen zur Biologie und Klinik der weiblichen Genitalfonktion. *Berlin*, 1931, Springer.
- [17]. — ZONDEK (B.). — Hormonale Schwangerschaftsreaktion aus dem Harn bei Mensch und Tier. *Klin Woch.*, 1930, 9, 2285-2289.

Table des Matières

PREMIÈRE PARTIE

Pages

LE DIAGNOSTIC PRÉCOCE DE LA GESTATION SON IMPORTANCE, SES DIFFICULTÉS

CHAPITRE PREMIER. — <i>Intérêt du diagnostic précoce de la gestation</i>	7
CHAPITRE DEUXIÈME. — <i>Semiologie de la gestation</i>	10
I. Procédés cliniques	10
A) Inspection	10
B) Palpation	12
C) Auscultation	13
D) Emploi du pendule	14
II. Méthodes de laboratoire	14
A) Procédés physiques	14
B) Procédés chimiques	15
C) Procédés biologiques	17
1) Variations cytologiques et sérologiques	17
2) Variations hormonales	18
Tableau résumant les diverses méthodes de diagnostic	18

DEUXIÈME PARTIE

LA FOLLICULINE

CHAPITRE PREMIER. — <i>Propriétés physiques et chimiques de la folliculine</i>	21
Préparation de la folliculine	22
Propriétés physiques de la folliculine	23
1) Solubilité	23
2) Dialyse et absorption	24
3) Thermostabilité	24
Propriétés chimiques de la folliculine	24

	Pages
CHAPITRE DEUXIÈME. — <i>Propriétés physiologiques de la folliculine</i>	26
I. Action sur l'appareil génital femelle.....	26
A) Le cycle œstral.....	26
B) Les effets de la folliculine.....	29
II. Action sur l'appareil génital mâle.....	30
III. Action sur la glande mammaire.....	31
IV. Action générale de la folliculine.....	31
CHAPITRE TROISIÈME. — <i>Origine et répartition de la folliculine</i>	33
I Origine	33
II. Répartition	36

TROISIÈME PARTIE

LE DOSAGE DE LA FOLLICULINE : TEST BIOLOGIQUE DE LA GESTATION

CHAPITRE PREMIER. — <i>La folliculine dans l'urine de gestation</i>	39
CHAPITRE DEUXIÈME. — <i>Dosage de la folliculine dans l'urine.</i>	42
I. Choix d'une méthode.....	42
II. Emploi de la méthode basée sur les signes vaginaux.	44
A) Principe	44
B) Matériel	45
1) Choix de l'espèce animale.....	45
2) Ovariectomie des rats.....	45
3) Entretien	50
4) Utilisation	50
CHAPITRE TROISIÈME. — <i>Le diagnostic de la gestation</i>	54
I. Technique des essais.....	54
A) Prélèvement et préparation de l'urine.....	54
B) Mode d'administration des urines.....	59
C) Recherches et interprétation des réponses....	60
II. Recherches expérimentales.....	60
A) Observations antérieures.....	60
B) Observations personnelles.....	62
III. Modalités de l'application pratique.....	66
CONCLUSIONS	69

